



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - UNICEUB  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE – FACES  
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

MANUELLA RIBAS RAMALHO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO TERAPÊUTICO DO NILOTINIBE (AMN107) EM  
PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA**

BRASÍLIA

2013

MANUELLA RIBAS RAMALHO

AVALIAÇÃO DO EFEITO TERAPÊUTICO DO NILOTINIBE (AMN107) EM  
PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA

Trabalho de conclusão de curso,  
apresentado em formato de artigo  
científico ao UniCEUB como requisito  
parcial para a conclusão do Curso de  
Bacharelado em Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Costa  
Vinhaes de Lima.

BRASÍLIA

2013

*Aos meus pais e à toda minha família, que sempre desejaram o melhor para o meu futuro profissional, além de serem meu porto seguro. Sem eles este trabalho não poderia ter sido realizado.*

*Aos professores com os quais tive o prazer de estudar e que fizeram parte da minha história, contribuindo para minha formação acadêmica, profissional e pessoal.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais pela determinação e luta para minha formação e dos meus irmãos – sem nunca medirem esforços ou criarem obstáculos –, e pelo incentivo, apoio e estímulo para enfrentar as barreiras da vida. Aos meus irmãos, cunhados e outros familiares (ainda que longe), agradeço por acreditarem na minha competência. Em especial, agradeço à minha querida tia pela força na hora da revisão final.

Para garantir o êxito e a qualidade deste trabalho, contei com a inestimável orientação da minha prezada orientadora, Professora Doutora Fernanda Costa Vinhaes de Lima, que graças a Deus confiou na minha capacidade de tornar viável este projeto, a quem empenho minha gratidão.

Recorri também à cooperação das minhas amigas de projeto. Obrigada pela paciência, ou a falta dela, pelas mudanças de humor, que sempre deixavam tudo mais interessante, pelas cobranças, sem as quais nada teria saído do papel, pela força e principalmente pela amizade.

Agradeço também à equipe de médicos hematologistas do Hospital de Base do Distrito Federal, os quais sempre foram muito solícitos com o nosso projeto ao longo desses dois anos de pesquisa. Aqui, registro também meus agradecimentos às atendedoras do Ambulatório da Hematologia, que contribuíram para a concretização desta pesquisa.

Faço um agradecimento especial aos pacientes com Leucemia Mielóide Crônica que acreditaram na nossa pesquisa, confiantes num amanhã mais promissor.

Obrigada, meus amigos de faculdade pela convivência maravilhosa durante esses cinco anos de luta. Sem vocês, nenhum dia teria graça.

Finalmente, meus agradecimentos a Deus, pela família maravilhosa, capaz de tanto amor e afeto quanto possível, por me amparar nos momentos de incerteza e me alegrar nos de júbilo. Por permitir que tudo isso se tornasse realidade, por ter-me feito capaz de concluir mais essa etapa da minha vida acadêmica e por inomináveis outros motivos.

*“Há duas formas para viver a sua vida: uma é acreditar que não existe milagre; a outra é acreditar que todas as coisas são um milagre.” (Fernando Pessoa)*

*“For those inclined to feed the bears, beat the light, traverse thin ice, run with scissors, get rich quick: here but for the Grace of God goes you.” (David Maples)*

*“Let other pens dwell in pain and misery. I quit such odious subjects as soon as I can, impatient to restore everybody, not greatly in fault themselves, to tolerable comfort, and to have done with all the rest.” (Jane Austen)*

# **AVALIAÇÃO DO EFEITO TERAPÊUTICO DO NILOTINIBE (AMN107) EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA**

Manuella Ribas Ramalho<sup>\*</sup>; Fernanda Costa Vinhaes de Lima<sup>\*\*</sup>

## **RESUMO**

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma neoplasia da medula óssea originada da translocação entre os cromossomos 9 e 22, formadora do gene híbrido BCR-ABL, que transcreve uma proteína com atividade de tirosino quinase, atuando como promotora da proliferação das células tumorais. Sendo o nilotinibe um potente inibidor da proteína mutada, ele age provocando apoptose das células alteradas. Seu uso está aprovado em pacientes em todas as fases de LMC. Esta pesquisa teve por objetivo avaliar o efeito terapêutico dessa droga em pacientes com LMC intolerantes ou resistentes ao mesilato de imatinibe. Para tal, procedeu-se uma análise de prontuários em 10 pacientes provenientes do HBDF que fizeram uso do medicamento. A mediana de idade dos pacientes foi de 57 anos, 70% (n=7) eram do sexo feminino e as respostas hematológica, citogenética e molecular foram favoráveis à terapia com essa medicação.

**Palavras-chave:** Inibidor de tirosino quinase. BCR-ABL. Terapia do câncer.

---

<sup>\*</sup> Graduanda do curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, Brasília/DF

<sup>\*\*</sup> Doutora em Patologia Molecular. Professora do Curso de Biomedicina, Centro Universitário de Brasília – UniCEUB Brasília/DF. fernanda.lima@uniceub.br

## 1 INTRODUÇÃO

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é um câncer do tecido hematopoiético no qual as células imaturas (blásticas ou pluripotentes) permanecem com capacidade de diferenciação, e, conseqüentemente, ocorre um aumento notável no número de células maduras e imaturas no sangue periférico e na medula óssea. A proliferação nos estágios de maior maturação apresenta significativa sobrevida na medula, na periferia e em órgãos (ZAGO *et al.*, 2001; GREER *et al.*, 2004; TEFFERI, 2008).

A incidência de LMC é um a dois casos para cada 100 mil habitantes e corresponde a 15-20% das leucemias. Essa neoplasia ocorre frequentemente em indivíduos de meia idade, entre a quinta e sexta década – com menos de 10% dos casos em pacientes com idade inferior a 20 anos –, pela ativação de um oncogene. Casuísticas nacionais sugerem uma mediana de idade, no mínimo, dez anos mais baixa que a encontrada na literatura internacional. A ativação do oncogene acontece por meio de uma translocação cromossômica (ZAGO *et al.*, 2001; GREER *et al.*, 2004; BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008; SWERDLOW *et al.*, 2008; SANT *et al.*, 2010; MORALES *et al.*, 2010).

Essa translocação cromossômica presente na LMC, o cromossomo Philadelphia (Ph), foi descoberta por Nowell & Hungerford em 1960 e é encontrada em 95% dos indivíduos acometidos por essa síndrome. Em 1973, Rowley descreveu tal alteração como uma translocação recíproca, onde o cromossomo 22 apresenta perda da porção terminal do seu braço longo, e o cromossomo 9 apresenta ganho desse respectivo material genético, na porção terminal do seu braço longo. A translocação ocorre entre a banda q34 do cromossomo 9 e a banda q11 do cromossomo 22, assim descrevendo-se o cromossomo Ph clássico: t(9;22)(q34;q11) (BAIKE *et al.*, 1960; CASPERSSON, *et al.*, 1970a, 1970b; KEARNEY *et al.*, 1982; BARTRAM *et al.*, 1987a, 1987b; LORENZI, 1999; GREER *et al.*, 2004; FUNKE *et al.*, 2010).

De Klein *et al.* (1982), Bartram *et al.* (1983) e Heisterkamp *et al.* (1983) descreveram a presença de um oncogene ABL, codificador de uma proteína ativadora da proliferação celular, a tirosino quinase, na região do cromossomo 9 translocada para o 22. A tirosino quinase ABL de 145 kDa, tem atividade na fosforilação direta dos mensageiros citoplasmáticos, responsáveis pela proliferação e diferenciação celular. Já a região de quebra no cromossomo 22 ocorre dentro do

gene BCR responsável por codificar a proteína serina/treonina quinase de 160 kDa, a qual reage com vários substratos protéicos. A fusão dessas duas regiões origina um gene quimérico que sintetiza uma proteína anormal especificamente p210. Esta atua desregulando os mecanismos de controle da divisão celular, potencializando-a, ou bloqueando a apoptose. Esta proteína quimérica, produto da fusão BCR-ABL de 210 kDa, representa o fator patogênético mais conhecido dessa síndrome. Em 1990, foi demonstrado em um modelo murino, que a presença do gene híbrido induzia uma doença mieloproliferativa semelhante à LMC vista em humanos, estabelecendo relação de causalidade entre o BCR-ABL e a LMC (KONOPKA; WITTE, 1985; HEISTERKAMP *et al.*, 1985; GAO; GOLDMAN, 1991; MARU; WITTE, 1991; VAN ETTEN, 2003; GREER *et al.*, 2004; FUNKE *et al.*, 2010).

A atividade da proteína, uma fosfoproteína tirosino quinase p210, está relacionada a uma hiper celularidade na medula óssea com predominância granulocítica (STAM *et al.*, 1985; BEN-NERIAH *et al.*, 1986). Na circulação periférica há leucocitose a níveis superiores a  $25.000/\text{mm}^3$ , o que reflete uma similaridade medular relacionada com o hipermetabolismo celular (ZAGO *et al.*, 2001; GREER *et al.*, 2004; KRAMER, 2008).

O diagnóstico da LMC é estabelecido pelo achado do cromossomo Ph por meio da citogenética convencional, do gene BCR-ABL por FISH (*Fluorescence in situ hybridization*) ou pelo transcrito (RNA mensageiro) do BCR-ABL por RT-qPCR (SILVEIRA, 2011).

Relatos sobre a evolução da LMC distinguem a fase inicial ou crônica com duração de 4 a 6 anos, evoluindo para fase acelerada com uma média de 18 meses de duração, e por último a fase blástica com uma duração média de apenas 6 meses. Cada uma das fases difere nas características clínicas e na resposta ao tratamento. No momento do diagnóstico mais de 50% dos pacientes são assintomáticos e aproximadamente 85% encontram-se na fase crônica. Cerca de 20% dos casos evoluem para a fase acelerada, em que se observa aumento no número de células imaturas. Quando esse aumento atinge 30%, o paciente evolui para a fase blástica da doença, tornando-se mais resistente ao tratamento. Nessa última fase, alterações genéticas adicionais são encontradas em 70% dos casos. (ZAGO *et al.*, 2000; GREER *et al.*, 2004; NICOLINI *et al.*, 2009; MORALES *et al.*, 2010).



Os indivíduos com LMC Ph positivo são de melhor prognóstico, além de possuírem indicação para transplante. Não havendo doador compatível, esses pacientes são tratados a fim de prolongar a fase crônica. Embora 5% dos casos de LMC não apresentem o cromossomo Ph clássico no estudo citogenético, a análise molecular detecta o rearranjo BCR-ABL na maioria deles. Aqueles em que o rearranjo também é negativo são exemplos de uma variante da LMC de menor proliferação de mielócitos e maior número de células monocitóides e neutrófilos atípicos que em geral tem mal prognóstico (KURZROCK *et al.*, 1986; BARTRAM, 1987; DeBRAKELEER *et al.*, 1988; DUBÉ *et al.*, 1989; ZAGO *et al.*, 2001; GREER *et al.*, 2004; MORALES *et al.*, 2010).

A técnica citogenética na LMC tem três propósitos: diagnóstico diferencial entre LMC e outras doenças mieloproliferativas, monitorização da resposta terapêutica e detecção de alterações cromossômicas adicionais. A análise citogenética de aspirado medular, portanto, é um dos métodos de escolha para diagnóstico e acompanhamento dos pacientes. A associação entre a técnica genética e técnicas moleculares é recomendada, pois permite maior sensibilidade e qualidade na medida do nível de transcritos do gene BCR-ABL (GOLDMAN; MELO, 2003; TEFERRI *et al.*, 2005; ALVARENGA *et al.*, 2010).

O tratamento pode ser escolhido dentre três: paliativo (com agentes citotóxicos); transplante de células tronco e uso de inibidores de tirosino quinase (SILVEIRA, 2011).

O paliativo é baseado no emprego de quimioterápicos para redução ao nível normal dos leucócitos circulantes em excesso de acordo com a fase na qual se encontra a doença – bussulfano e hidróxiuréia. Dados na literatura relatam que a sobrevida de pacientes tratados com tais medicamentos varia de 3 a 5 anos. O mecanismo de ação dá-se pela interferência na síntese do DNA através da inibição da enzima ribonucleotídeo redutase. A utilização desses pode ocasionar aplasia medular, além de fibrose pulmonar e amenorréia em mulheres. O interferon alfa, proteína própria da resposta imunológica, é também utilizado como inibidor da proliferação dos granulócitos, principalmente na fase blástica; entretanto, seu emprego terapêutico pode provocar reações gerais como auto-imunização e distúrbios da esfera psíquica; embora exista a possibilidade de ser utilizado em pacientes que não são candidatos a transplante e são intolerantes ou refratários ao

tratamento com inibidores de tirosino quinase (TALPAZ *et al.*, 1987; KENNEDY, 1992; ZAGO *et al.*, 2001; SILVEIRA, 2011).

Transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas é considerado a única opção de cura, porém está associado a altos índices de toxicidade e mortalidade precoce (KANTARJIAN *et al.*, 1998; FADERL *et al.*, 1999; SILVEIRA, 2011).

O advento do mesilato de imatinibe (IM, STI571 ou *Glivec®*) revolucionou a terapêutica para LMC, pois confirmou a ligação entre o gene mutado BCR-ABL de sinalização celular anormal e a ação dos inibidores de tirosino quinase sobre tal; promovendo, mais adiante, o desenvolvimento de inibidores de tirosino quinase feitos com moléculas menores, os de segunda geração. Os inibidores tem ação apenas no clone mutado, tendo como alvo a tirosino quinase ativa, bloqueando o sítio de ligação de ATP; e, embora não promovam cura, são, no entanto, capazes de atingir controles de longo prazo, na maioria dos pacientes, pela alta especificidade (CAPDEVILLE, *et al.*, 2002a, 2002b; LEVITZKI, 2002; RADFORD, 2002; HANTSCHHEL; RIX; SUPERTI-FURGA 2008; DIAMOND; MELO, 2011; SILVEIRA, 2011).

O tratamento inicial foi confirmado com IM (continuado indefinidamente em pacientes com boa resposta), evoluindo, em caso de respostas subótimas, para os de segunda geração. A tradução do gene é bloqueada devido à presença do princípio ativo do STI571 no sítio de ligação do ATP na p210, impedindo assim sua autofosforilação. Além da negativação do cromossomo Ph, outras vantagens desse medicamento são a menor frequência de efeitos colaterais e maiores respostas clínica e hematológica (BACCARANI *et al.*, 2009; SILVEIRA, 2011).

Cerca 20 a 30% dos pacientes que fazem uso do IM desenvolvem resistência e descontinuem o tratamento. Recomenda-se, em situações de falha do IM, mudança para os inibidores de segunda geração, seguido de transplante alogênico de células tronco. Entre as hipóteses levantadas para a resistência, destacam-se a não inibição pelo medicamento, a concentração intracelular deste diminuída ou mutações pontuais levando a variações moleculares do cromossomo Ph. Mutações pontuais no domínio ABL quinase no gene BCR-ABL são os mecanismos mais comuns de reativação da proteína híbrida, pois essas impedem a ligação da droga. Dentre os pacientes que desenvolveram resistência ao IM, 60 a 90% o fazem devido a mutações (BRANFORD *et al.*, 2002; SHAH *et al.*, 2002; O'HARE *et al.*, 2005;

ALVARENGA *et al.*, 2010; MORALES *et al.*, 2010; BACCARANI *et al.*, 2009, SILVEIRA, 2011).

Além do desenvolvimento de resistência ao IM, outra possibilidade é a intolerância, com o surgimento de efeitos adversos. Um dos distúrbios mais graves que podem surgir no tratamento é a mielodepressão (ALVARENGA *et al.*, 2010).

Dasatinibe (BMS354825, *Sprycel*®) e nilotinibe (AMN107, *Tasigna*®) são os inibidores de segunda geração baseados no mesmo mecanismo de ação. (KANTARJIAN *et al.*, 2010). Na mudança terapêutica deve-se levar em consideração a resposta terapêutica do paciente. Três critérios básicos são analisados para tal: resposta hematológica, resposta citogenética e resposta molecular (BRASIL, 2008).

O dasatinibe (BMS354825) é a primeira terapia autorizada pelo FDA (Food and Drug Administration) como tratamento da LMC resistente ou intolerante ao IM. É um inibidor de múltiplos alvos, entretanto, diferentemente do IM, inibe as formas ativas e inativas da molécula BCR-ABL, mostrando uma potência muito maior que o imatinibe. Estudos demonstram que o dasatinibe é ativo contra todas as mutações da oncoproteína BCR-ABL resistentes ao imatinibe, porém nem ele nem o nilotinibe tem ação na mutação T315I (HANTSCHEL; RIX; SUPERTI-FURGA 2008; LOPES; ABREU, 2009; MORALES *et al.*, 2010; OROZCO *et al.*, 2010).

Nilotinibe é um inibidor de tirosino quinase de segunda geração, análogo ao IM, com potência 20 vezes maior sobre a proteína e moderadamente bem tolerado pelo organismo. Resultados de estudos indicam que 32 dos 33 sítios de mutação no BCR-ABL resistentes ao IM são mais sensíveis ao nilotinibe (com exceção do T315I). É também um inibidor de múltiplos alvos (assim como o dasatinibe), mais especificamente, as famílias quinases BCR-ABL, Kit e PDGFR (WEISBERG *et al.*, 2005; HANTSCHEL; RIX; SUPERTI-FURGA, 2008; LeCOUTRE *et al.*, 2012).

Tanto o dasatinibe quanto o nilotinibe podem ser utilizados para a mesma finalidade. A escolha do agente é baseada no perfil do paciente e suas reações adversas ao tratamento com imatinibe. Futuramente, o tratamento será direcionado à presença de um tipo de mutação BCR/ABL no indivíduo de forma particular, de acordo com a sensibilidade do ponto de mutação à droga (JABBOUR *et al.*, 2009; HUGHES *et al.*, 2009).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito terapêutico do nilotinibe no tratamento de LMC em pacientes Philadelphia positivos, através da resposta hematológica, citogenética e molecular.

## 2 METODOLOGIA

A presente pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde - FEPECS, em 31 de outubro de 2011, sob o registro de 0471/2011.

Os participantes incluídos na pesquisa foram provenientes da rede hospitalar pública, atendidos no serviço ambulatorial do Hospital de Base do Distrito Federal (HBDF). Os critérios de inclusão para o desenvolvimento dessa pesquisa foram: pacientes com idade superior a dezoito anos; pacientes com diagnóstico clínico, hematológico, citogenético e/ou molecular de LMC e; pacientes em tratamento com nilotinibe. Todos os participantes que não apresentavam esses critérios foram excluídos da pesquisa.

Após a devida anuência e concordância dos participantes, por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, pacientes com leucemia mielóide crônica, sob tratamento de nilotinibe foram estudados clinicamente, através de estudo retrospectivo da análise de prontuários entre novembro de 2011 a maio de 2013. Os dados coletados referem-se às informações pessoais (nome, idade, sexo) e dados clínicos (valores de hemograma, estudo citogenético, exames moleculares).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Características dos pacientes

Nilotinibe é um inibidor de tirosino quinase de segunda geração derivado do IM. Foi aprovado para uso pela Food and Drug Administration (FDA) em 29 de outubro de 2007 para o tratamento de adultos com LMC Ph+ em fases crônica e acelerada tanto como primeira linha quanto para pacientes que apresentaram resistênciã ou intolerância ao tratamento prévio com IM. Tem demonstrado eficácia em todas as fases de LMC Ph+. Muitos estudos de fase 2 demonstraram uma melhora da sobrevida de pacientes com LMC em uso de nilotinibe (DeREMER; USTUN; NATARAJAN, 2008; LeCOUTRE, *et al.*, 2012).

A dose aprovada pelo FDA é de 400mg 2x/dia (800mg diário) (DeREMER; USTUN; NATARAJAN, 2008), porém há uma preferência entre os médicos do HBDF

em adotar a dose diária de 400mg, somente evoluindo para 800mg/dia quando se percebe uma demora na melhora do quadro.

O nilotinibe interage formando uma molécula de AMN107, que é um inibidor ATP-competitivo da atividade da proteína tirosino quinase transcrita pelo BCR-ABL, prevenindo a ativação das vias mitogênico e antiapoptótica dependentes do BCR-ABL, levando à morte celular. Essa droga, *in vitro*, não é capaz de inibir apenas 1 das 33 mutações conhecidas pelo BCR-ABL que fazem com que haja falha no tratamento com IM (DELAMAIN; CONCHON, 2008; JABBOUR, *et al.*; 2009).

A maioria dos pacientes em fase acelerada da doença assim evoluiu por falha no tratamento com IM – resistência ou intolerância (LeCOUTRE, 2008). Mutações pontuais no domínio ABL quinase no gene BCR-ABL são os mecanismos mais comuns de reativação da proteína híbrida, pois essas impedem a ligação da droga (ALVARENGA, *et al.*, 2010).

Dependendo do ponto de quebra no gene BCR, três proteínas distintas podem ser originadas. Tais quebras podem estar relacionadas a alterações cromossômicas adicionais, interferindo no curso da doença e na resposta dos pacientes aos diversos medicamentos (MORALES *et al.*, 2010).

Em relação à terapia com IM, deve-se considerar resistência à droga pelos seguintes fatores: falha na obtenção de remissão hematológica completa (RHC) em três meses de tratamento; nenhuma resposta citogenética aos 6 meses; falha na obtenção de resposta citogenética maior (RCM) aos 12 meses; e/ou falha na obtenção de resposta citogenética completa (RCC) aos 18 meses. A intolerância ao IM é descrita quando pacientes descontinuaram a terapia em decorrência de eventos adversos que persistiram apesar de medidas de suporte ideais ou recorrência dos episódios mais de três vezes durante o tratamento (DELAMAIN *et al.*, 2008).

Constatou-se também uma associação entre a dose do IM e sua tolerância pelo organismo. As doses mais altas (800mg/dia) apresentam alterações clínicas adversas mais graves quando comparadas com doses mais baixas (400mg/dia e 600 mg/dia) (ALVARENGA *et al.*, 2010).

Foram recrutados 48 pacientes do Núcleo de Hematologia e Hemoterapia do Hospital de Base do Distrito Federal com diagnóstico de leucemia mielóide crônica. Todos realizavam algum tipo de tratamento medicamentoso e, destes, 10 pacientes (20,83%) faziam uso do nilotinibe. Todos estes pacientes evoluíram para o uso do

inibidor de segunda geração nilotinibe, precedido ou não pelo dasatinibe, por apresentarem intolerância ou resistência prévia ao mesilato de imatinibe (IM).

Todos os pacientes incluídos nesta pesquisa fizeram uso do IM. Destes, a maioria (70%; n=7) foi direto para o tratamento com nilotinibe, enquanto que apenas 30% (n=3) passou pelo tratamento com dasatinibe antes do início do nilotinibe. Pela análise dos prontuários, fica claro que a escolha de mudança terapêutica no caso desses 7 pacientes foi devido à intolerância ao imatinibe, com efeitos adversos incluindo náuseas a pancitopenia.

Dos 3 pacientes que tiveram tratamento prévio com dasatinibe, 2 (66,67%) descontinuaram também o tratamento com nilotinibe; um por falta de resposta hematológica ou citogenética e o outro, por intolerância (pancitopenia). Estes estão atualmente em uso de hidroxiuréia, para leucoredução inespecífica. Portanto, dos 10 pacientes na pesquisa, apenas 1 (10%) apresentou intolerância ao tratamento com nilotinibe.

As características gerais dos pacientes selecionados se referem à idade ao diagnóstico, ao sexo, ao tempo de diagnóstico, à data de início do tratamento e ao tempo de uso do nilotinibe.

Os dados de cada paciente foram analisados e inseridos em tabelas para demonstração dos resultados.

Na Tabela 1 estão distribuídos os pacientes em tratamento com nilotinibe de acordo com a faixa etária no momento do diagnóstico. A menor idade observada entre esses pacientes foi de 22 anos e a maior, de 72, com mediana de 57. Resultado condizente com os valores de mediana entre 55-60 anos na literatura (TEFFERI *et al.*, 2005). Porém, índices nacionais mostram uma mediana de idade, no mínimo, dez anos mais baixa que a encontrada na literatura internacional (BORTOLHEIRO; CHIATTONE, 2008).

A maior incidência neste estudo foi de pacientes entre 61-70 anos, 50% (n=5). A segunda maior foi entre 51-60 anos (n=2; 20%). As demais faixas etárias apresentaram frequência igual (10%; n=1), apesar de não haver pacientes com idade ao diagnóstico entre 31-40 anos.

Tabela 1. Distribuição de acordo com a faixa etária no momento do diagnóstico dos pacientes em uso de nilotinibe.

<b>Faixa etária</b>	<b>Nº</b>	<b>%</b>
<b>21 - 30 anos</b>	1	10,0
<b>31 - 40 anos</b>	0	0
<b>41 - 50 anos</b>	1	10,0
<b>51 - 60 anos</b>	2	20,0
<b>61 - 70 anos</b>	5	50,0
<b>71 - 80 anos</b>	1	10,0
<b>Total</b>	10	100

Na distribuição dos pacientes quanto ao sexo, notou-se uma discrepância significativa em relação à literatura, que relata maior número de homens com LMC, segundo Morales e colaboradores (2010). Na população de pacientes em uso de nilotinibe observa-se que apenas 30% (n=3) são do sexo masculino enquanto 70% (n=7) são do feminino.

Ainda seguindo o mesmo estudo de 2010, a neoplasia afeta ambos os sexos, com uma predominância do sexo masculino em uma relação de 1,4:1. Porém, na literatura tem-se notado um número aumentado de casos em mulheres por elas terem se tornado profissionalmente mais ativas, estando assim mais expostas a fatores ambientais que podem ser causa da alteração cromossômica (MENZIN *et al.*, 2004).

Deve-se também levar em consideração o baixo número de pacientes nesta pesquisa, pois tal fato impossibilita que a população com LMC em uso de nilotinibe seja adequadamente representada.

A Tabela 2 apresenta o tempo de diagnóstico dos pacientes. O maior número de pacientes se encontra entre 2-3,9 anos (30%; n=3) e 6-8 anos (30%; n=3) de diagnóstico. Um paciente (10%) foi diagnosticado há menos de 2 anos e apenas 1 (10%) há mais de 8.

A Tabela 3 explicita o tempo de uso do nilotinibe por esses pacientes em meses. A grande maioria (60%; n=6) faz uso da medicação desde 13-24 meses. Apenas 2 pacientes (20%) fazem uso há menos de um ano; enquanto 1 paciente (10%) faz uso entre 25-36 meses; e 1 (10%) há mais de três anos.

Tabela 2. Distribuição de pacientes em uso de nilotinibe quanto ao tempo de diagnóstico em anos.

<b>Tempo de diagnóstico (anos)</b>	<b>N°</b>	<b>%</b>
<b>0 – 1,9</b>	1	10,0
<b>2 – 3,9</b>	3	30,0
<b>4 – 5,9</b>	2	20,0
<b>6 – 8</b>	3	30,0
<b>&gt; 8</b>	1	10,0
<b>Total</b>	10	100

Tabela 3. Distribuição de pacientes em uso de nilotinibe de acordo com o tempo de uso da medicação.

<b>Tempo de uso do nilotinibe (meses)</b>	<b>N°</b>	<b>%</b>
<b>0 – 12</b>	2	10,0
<b>13 – 24</b>	6	60,0
<b>25 – 36</b>	1	10,0
<b>37 – 48</b>	1	10,0
<b>Total</b>	10	100

De acordo com a Portaria nº 649 de 2008 do Ministério da Saúde, os resultados terapêuticos são passíveis de análise segundo os seguintes critérios: resposta hematológica, resposta citogenética e resposta molecular. Portanto, para monitorização da resposta ao nilotinibe foram coletados dados referentes aos exames hematológicos, citogenéticos e moleculares (RT-qPCR), de todos os pacientes incluídos no trabalho.

### **3.2 Resultados hematológicos pré e pós-tratamento com nilotinibe**

A contagem total de leucócitos no sangue periférico é um dado hematológico significativo, retratando a condição imunológica de um indivíduo, além de refletir a



condição de hiperplasticidade característica desta neoplasia. A literatura relata que pacientes com leucemia mielóide crônica habitualmente apresentam anemia, leucocitose e plaquetometria normal ou aumentada. A leucocitose aumenta progressivamente em pacientes não tratados (CHAUFFAILLE, 2010).

Ainda segundo a mesma Portaria nº 649 de 2008 do Ministério da Saúde, a resposta hematológica corresponde à redução de 50% da leucocitose inicial por no mínimo duas semanas. A resposta hematológica completa dá-se quando a leucocitose fica abaixo de  $10.000/\text{mm}^3$  com ausência de pró-mielócitos ou mieloblastos,  $<5\%$  de mielócitos ou metamielócitos e plaquetopenia em torno de  $450.000/\text{mm}^3$  que se mantêm por pelo menos quatro semanas.

Em 2010, pacientes recém-diagnosticados em fase crônica tratados com IM tinham uma resposta hematológica completa durável em 98% dos casos e uma resposta citogenética completa em 80% (LIMA, *et al.*, 2011). Em um estudo de seguimento de 24 meses com nilotinibe conduzido por Le Coutre *et al.* em 2012 55% dos pacientes atingiram algum tipo de resposta hematológica, enquanto que 31% atingiram resposta hematológica completa.

A Tabela 4 relata os valores da contagem de leucócitos dos pacientes, antes de realizar o tratamento e depois de iniciado o nilotinibe. Os valores observados nos pacientes antes do tratamento variam entre 3.140 a  $36.700/\text{mm}^3$ . Já os valores após o nilotinibe variam entre 3.100 a  $13.700/\text{mm}^3$ , mostrando uma melhora global. O valor referencial para a contagem de leucócitos compreende o intervalo de 3.600 a  $11.000/\text{mm}^3$  (FAILACE, 2009). Qualquer valor abaixo do mínimo caracteriza uma leucopenia e qualquer valor acima do máximo, uma leucocitose.

Com a exceção de 4 pacientes (2 – 20% – por falta de resultados relatados em prontuário), observa-se claramente uma diminuição na contagem leucocitária, com um dos pacientes que obteve  $36.000/\text{mm}^3$  no pré passando para  $3.520/\text{mm}^3$  no pós-tratamento.

A Tabela 5 concretiza os resultados da Tabela 4, fazendo uma distribuição dos pacientes pré e pós-tratamento de acordo com a faixa leucocitária. Pode-se perceber com a ajuda da tabela que antes do tratamento, 20% (n=2) dos pacientes apresentavam leucopenia e outros 20% (n=2) apresentavam leucocitose. Logo após o início do uso do nilotinibe, 2 pacientes distintos (20%) apresentaram leucopenia e apenas 1 (10%) apresentou leucocitose.

A metade dos pacientes (n=5; 50%) apresentou valores de contagem dentro dos valores de referência no pós-tratamento.

Tabela 4. Valor absoluto dos leucócitos no pré e pós-tratamento com nilotinibe.

<b>Identificação dos pacientes</b>	<b>Leucócitos pré-tratamento (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Leucócitos pós-tratamento (/mm<sup>3</sup>)</b>
<b>CMS</b>	3.240	4.500
<b>DGM</b>	5.800	Não relatado
<b>ICS</b>	12.400	13.700
<b>IMM</b>	4.400	3.100
<b>JDM</b>	10.000	3.820
<b>LMFF</b>	Não relatado	10.300
<b>MZRSR</b>	3.140	Não relatado
<b>OSV</b>	4.090	5.190
<b>TVR</b>	8.200	7.100
<b>VFS</b>	36.700	3.520

Tabela 5. Distribuição dos pacientes de acordo com a faixa leucocitária, pré e pós-tratamento com nilotinibe.

<b>Leucócitos (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Pré- tratamento</b>	<b>%</b>	<b>Pós-tratamento</b>	<b>%</b>
<b>Até 3.600</b>	2	20,0	2	20,0
<b>3.601 – 5.500</b>	2	20,0	3	30,0
<b>5.501 – 9.500</b>	2	20,0	1	10,0
<b>9.501 – 10.999</b>	1	10,0	1	10,0
<b>&gt; 11.000</b>	2	20,0	1	10,0
<b>Não relatado</b>	1	10,0	2	20,0
<b>Total</b>	10	100	10	100

Pacientes com LMC demonstram índices normais ou aumentados de plaquetas, acompanhando o aumento dos leucócitos, já que ambos originam-se do mesmo precursor mielóide. Em contrapartida, a eritropoiese encontra-se sensivelmente diminuída devido ao aumento exacerbado da contagem de leucócitos,

provocando assim anemia na maioria dos pacientes (DOSIK; ROSNER; SAWITSKY, 1972).

Na Tabela 6 estão relatados os resultados da contagem plaquetária dos pacientes, individualmente, no pré e no pós-tratamento com nilotinibe. Com resultados variando entre 77.000 a 664.000/mm<sup>3</sup> no pré-tratamento, percebe-se uma divergência com relação ao valor referencial, que é de 140.000 a 360.000/mm<sup>3</sup> (FAILACE, 2009). Qualquer valor abaixo do mínimo caracteriza uma plaquetopenia (ou trombocitopenia) e qualquer valor acima do máximo, uma plaquetose (ou trombocitose).

Após o início da terapia com nilotinibe, os resultados sofreram variação entre 28.000 e 750.000/mm<sup>3</sup>.

Aqui vale ressaltar que no caso em que houve aumento da plaquetose, de 664.000 para 750.000/mm<sup>3</sup>, esta aconteceu por falha no tratamento com nilotinibe, como explanado anteriormente, e este paciente já não está mais em uso da medicação.

A Tabela 7 explicita melhor os resultados da Tabela 8 no que se refere à classificação quanto à presença ou não de resultados alterados. Nela pode-se perceber que enquanto antes do tratamento 30% (n=3) dos pacientes apresentavam plaquetose apenas 20% (n=2) apresentaram tal resultado logo após o início da medicação. No pré-tratamento, 40% (n=4) dos pacientes tiveram plaquetopenia; e no pós-tratamento, esses números persistiram.

Tabela 6. Valor absoluto de plaquetas no pré e pós-tratamento com nilotinibe.

<b>Identificação dos pacientes</b>	<b>Plaquetas pré-tratamento (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Plaquetas pós-tratamento (/mm<sup>3</sup>)</b>
<b>CMS</b>	205.000	254.000
<b>DGM</b>	77.000	Não relatado
<b>ICS</b>	664.000	750.000
<b>IMM</b>	144.000	28.000
<b>JDM</b>	230.000	79.000
<b>LMFF</b>	Não relatado	380.000
<b>MZRSR</b>	225.000	Não relatado
<b>OSV</b>	131.000	180.000

<b>TVR</b>	439.000	295.000
<b>VFS</b>	561.000	162.000

Tabela 7. Distribuição dos pacientes quanto à contagem de plaquetas pré e pós-tratamento com nilotinibe.

<b>Plaquetas (/mm<sup>3</sup>)</b>	<b>Pré- tratamento</b>	<b>%</b>	<b>Pós-tratamento</b>	<b>%</b>
<b>Até 140.000</b>	2	20,0	2	20,0
<b>140.001 – 360.000</b>	4	40,0	4	40,0
<b>360.001 – 1.000.000</b>	3	30,0	2	20,0
<b>Não relatado</b>	1	10,0	2	20,0
<b>Total</b>	10	100,0	10	100,0

### 3.3 Resultados citogenéticos pré e pós-tratamento com nilotinibe

A resposta citogenética pode ser ausente (>90% de células cm Ph+), menor (35% a 90% de células Ph+), parcial (1% a 34% de células Ph+), completa (0% de células Ph+) e maior, que corresponde à soma da completa mais parcial, isto é <35% de células com cromossomo Ph+ (BRASIL, 2008).

Em um estudo de fase 2 em pacientes intolerantes ou resistentes ao IM em uso de nilotinibe, ao todo, 58% dos pacientes em fase crônica atingiram resposta citogenética maior; 42%, uma resposta completa; e 77%, resposta hematológica completa (DeREMÉR; USTUN; NATARAJAN, 2008). Em outro estudo, este de seguimento de 24 meses, 66% mantiveram a resposta citogenética completa obtida (LeCOUTRE, *et al.*, 2012).

Apenas 20% dos pacientes (n=2) apresentaram resultados citogenéticos relatados em seus prontuários. Esses dados são explicados devido ao fato de que o acompanhamento dos pacientes que já estão mais acelerados no tratamento, como é o caso dos em uso de nilotinibe, ser feito preferencialmente por RT-qPCR e não por citogenética, como é mais comum no início.

A Tabela 8 mostra os resultados pré e pós-tratamento com nilotinibe dos pacientes em cujos prontuários consta tal informação (n=2). Pode-se observar por

meio da tabela que houve resposta citogenética completa (ausência de cromossomo Ph) em 20% dos pacientes (n=2).

Tabela 8. Resultado da análise citogenética pré e pós-tratamento com nilotinibe.

<b>Identificação dos pacientes</b>	<b>Pré-tratamento</b>	<b>Pós-tratamento</b>
<b>ICS</b>	PH+ 20%	Ph-
<b>JDM</b>	6Ph+ 75%	Ph-

A Tabela 9 especifica as mutações adicionais que foram observadas em 2 pacientes (20%).

Tabela 9. Mutações genéticas adicionais encontradas nesses pacientes:

<b>Identificação dos pacientes</b>	<b>Pré-tratamento</b>	<b>Pós-tratamento</b>
<b>DGM</b>	45, XY, -7[9], 47, XY, +8[7]	Não relatado
<b>JDM</b>	t(16;17)(q23;q10)	t(16;17)(q23;q10)

Levando-se em consideração as Tabelas 8 e 9 em conjunto, é possível perceber que um dos pacientes (JDM) obteve resposta citogenética completa, porém este apresenta uma translocação entre os cromossomos 16 e 17 nunca antes descrita na literatura.

O paciente restante apresentava, antes do tratamento com nilotinibe, uma monossomia do cromossomo 7 em 9 das células analisadas (39,13%) e uma trissomia do 8 em 7 das células analisadas (30,43%) além dos 13,04% de Ph+.

### 3.4 Resultados moleculares pré e pós-tratamento com nilotinibe

A técnica utilizada pra monitorar a resposta molecular é o PCR em tempo real (RT-qPCR), que permite quantificar o número de transcritos de BCR-ABL. A resposta favorável é determinada pelo decréscimo na quantidade de transcritos BCR-ABL. Esta é dividida em dois parâmetros: resposta molecular completa (transcritos BCR-ABL indetectáveis em duas amostras consecutivas de sangue) e

resposta molecular maior (razão BCR-ABL/ABL <0,1% em escala internacional) (SILVEIRA, 2011).

Nesta pesquisa, 40% dos pacientes apresentaram informações sobre resultados de RT-qPCR pré e pós-tratamento com nilotinibe em seus prontuários. Destes, 50% (n=2) apresentou redução significativa na quantidade de transcritos BCR-ABL, 25% (n=1) apresentou redução em menor escala e 25% (n=1) teve aumento não significativo no número de transcritos.

Tabela 10. Resultado da análise molecular dos pacientes pré e pós-tratamento com nilotinibe.

<b>Identificação dos pacientes</b>	<b>Pré-tratamento Relação BCR/ABL (%)</b>	<b>Pós-tratamento Relação BCR/ABL (%)</b>
<b>JDM</b>	12,510	12,310
<b>LMFF</b>	0,020	0
<b>OSV</b>	2,510	0,050
<b>TVR</b>	0,013	0,062

## 4 CONCLUSÃO

Na presente pesquisa, foram estudados os casos de 48 pacientes com leucemia mielóide crônica provenientes da Hematologia do Hospital de Base do Distrito Federal. Destes, 10 fazem ou fizeram uso de nilotinibe como agente terapêutico.

As respostas citogenética, molecular e hematológica foram favoráveis ao uso do medicamento. No entanto, tais resultados são insuficientes para constatar a eficácia terapêutica do nilotinibe, visto que apesar dos esforços empregados, o número baixo de pacientes recrutados, as informações não relatadas em prontuário, além das contradições entre os prontuários físicos e os eletrônicos, impediram que a população com LMC em uso de nilotinibe fosse suficientemente representada neste estudo.

Por conseguinte, torna-se necessária a continuidade de projetos semelhantes para aumento da população amostral e caracterização do efeito da medicação.

Além do nilotinibe, estão sendo investigadas novas drogas e o uso combinado de vários agentes, podendo aumentar assim a gama de opções de tratamentos disponíveis para LMC, com perspectivas de melhores respostas a longo prazo.

## EVALUATION OF THERAPEUTIC EFFECT OF NILOTINIB (AMN107) IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

### ABSTRACT

Chronic myeloid leukemia (CML) is a cancer of hematopoietic system resulting from a translocation between chromosomes 9 and 22 forming BCR-ABL hybrid gene, which transcribes a protein with tyrosine kinase activity, responsible for the proliferation of tumor cells. Nilotinib is a potent tyrosine kinase inhibitor (TKI) that acts causing apoptosis of these abnormal cells. It is approved for use in patients in all phases of CML. The present research aims to evaluate this drug's therapeutic effect in patients resistant or intolerant to previous imatinib therapy. A total of 10 patients from a medical facility in use of this medication were recruited. Through analysis of medical records, it was surmised that the age median was 57 years, 70% (n=7) were female and the hematologic, cytogenetic and molecular responses were favorable to nilotinib therapy.

**Keywords:** Tyrosine kinase inhibitor (TKI). BCR-ABL. Cancer therapy.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, T.F; CARVALHO, L.O; LUCENAS, S.B; *et al.* Efeitos adversos e resposta citogenética em pacientes com leucemia mielóide crônica tratados com imatinibe. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 32(2): 116-122, 2010.

BACCARANI, M; CORTES, J; PANE, F; *et al.* Chronic Myeloid Leukemia: An Update of Concepts and Management Recommendations of European LeukemiaNet. **Journal of Clinical Oncology**, 27(35): 6041-6051, 2009.

BAIKE, A.G; BROWN, W.M.C; BUCKTON, K.E; *et al.* A possible specific chromosome abnormality in human chronic myeloid leukemia. **Nature**, 188(4757): 1165-1166, 1960.

BARTRAM, C.R; DE KLEIN, A; HAGAMEIJER, A; *et al.* Translocation of *c-abl* oncogene correlates with the presence of a Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. **Nature**, 306: 277-280, 1983.

BARTRAM, C.R; RAGHAVACHAR, A; ANGER, B; *et al.* T lymphocytes lack rearrangement of the *bcr* gene in Philadelphia chromosome-positive chronic myelocytic leukemia. **Blood**, 69(6): 1682-1685, 1987a.

BARTRAM, C.R. Rearrangement of *bcr* and *c-abl* sequences in Ph-positive acute leukemias and Ph-negative CML – an update. **Hematology and Blood Transfusion**, 31: 160-162, 1987b.

BEN-NERIAH, Y; DALEY, G.Q; MES-MASSON, A.M; *et al.* The chronic myelogenous leukemia-specific P210 protein is the product of the *bcr/abl* hybrid gene. **Science**, 233(4760): 212-214, 1986.

BORTOLHEIRO, T.C; CHIATTONE, C.S. Leucemia Mielóide Crônica: história natural e classificação. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 30(1): 3-7, 2008.

BRANFORD, S; RUDZKI, Z; WALSH, S; *et al.* High frequency of point mutations clustered within the adenosine triphosphate – binding region of BCR/ABL in patients with chronic myeloid leukemia or Ph-positive acute lymphoblastic leukemia who develop imatinib (STI571) resistance. **Blood**, 99(9): 3472-3475, 2002.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas – Leucemia Mielóide Crônica. Portaria SAS/MS nº 649, de 11 de novembro de 2008.

CAPDEVILLE, R; BUCHDUNGER, E; ZIMMERMANN, J; MATTER, A. Glivec (STI571, imatinib), a rationally developed, targeted anticancer drug. **Nature Reviews Drug Discovery**, 1(7): 493-502, 2002a.

CAPDEVILLE, R; SILBERMAN, S; DIMITRIJEVIC, S. Imatinib: the first 3 years. **European Journal of Cancer**, 38(5): 77-82, 2002b.

CASPERSSON, T; GAHRTON, G. LINDSTEN, J; ZECH, L. Identification of the Philadelphia chromosome as a number 22 by quinacrine mustard fluorescence analysis. **Experimenta Cell Research**, 63(1): 238-240, 1970a.

CASPERSSON, T.; ZECH, L.; JOHANSSON, C.; MODEST, E.J. Identification of human chromosomes by DNA binding fluorescent agents. **Chromosoma**, 30: 215-227, 1970b.

DELAMAIN, M.T.; CONCHON, M. Os inibidores de tirosino quinase de segunda geração. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 31(6): 449-453, 2008.

DeBRAKELEER, M; CHIU, H.M; FISER, J; GARDNER, H.A. A further case of Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia with t(3;9;22). **Cancer Genetics and Cytogenetics**, 35(2): 279-280, 1988.

DeKLEIN, A; VAN KESSEL, A.G; GROSVELD, G; *et al.* Translocation of c-abl oncogene correlates with the presence of a Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. **Nature**, 300: 765-767, 1982.

DeREMÉR, D.L; USTUN, C; NATARAJAN, K. Nilotinib, a second-generation tyrosine kinase inhibitor for the treatment of chronic myelogenous leukemia. **Clinical Therapeutics**, 30(11): 1956-1975, 2008.

DIAMOND, J.M; MELO, J.V; Mechanisms of resistance to BCR-ABL kinase inhibitors. **Leukemia & Lymphoma**, 52(1): 12-22, 2011.

DUBÉ, I; DIXON, J; BECKETT, T; *et al.* Location of breakpoints within the major breakpoint cluster region (*bcr*) in 33 patients with *bcr* rearrangement-positive chronic myeloid leukemia with complex or absent Philadelphia chromosomes. **Genes, Chromosomes and Cancer**, 1(1): 106-111, 1989.

DOSIK, H; ROSNER, F; SAWITSKY, A. Acquired lipidoses: Gaucher-like cells and “blue cells” in chronic granulocytic leukemia. **Seminars in Hematology**, 9(3): 309-316, 1972.

FADERL, S.; TALPAZ, M.; ESTROV, Z.; *et al.* Chronic myelogenous leukemia: biology and therapy. **Annals of Internal Medicine**, 131(3): 207-219, 1999.

FAILACE, R. **Hemograma – manual de interpretação**. São Paulo, Ed. Artmed, 5 ed., 2009.

FUNKE, V.M; BITENCOURT, H; VIGORITO, A.C; ARANHA, F.J. Leucemia mielóide crônica e outras doenças mieloproliferativas crônicas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 32(1):71-90, 2010.

GAO, L.M; GOLDMAN, J. Long-range mapping of the normal *BCR* gene. **Leukemia**, 5(7): 555-560, 1991.

GOLDMAN, J.M; MELO, J.V. Chronic myeloid leukemia – advances in biology and new approaches to treatment. **New England Journal of Medicine**, 349(15), 1451-1464, 2003.

GREER, J.P; FOERSTER, J; RODGERS, J.M. **Wintrob's Clinical Hematology**. Ed. Lippincott, Williams and Wilkins, 11 ed. 2004.

HANTSCHER, O; RIX, U; SUPERTI-FURGA, G. Target spectrum of the BCR-ABL inhibitors imatinib, nilotinib and dasatinib. **Leukemia & Lymphoma**, 49(4):615-619, 2008.

HEISTERKAMP, N; STEPHENSON, J.R; GROFFEN, J; *et al.* Localization of the *c-abl* oncogene adjacent to a translocation breakpoint in chronic myelocytic leukemia. **Nature**, 306: 239-242, 1983.

HEISTERKAMP, N; STAM, K; GROFFEN, J; *et al.* Structural organization of the *bcr* gene and its role in the Ph translocation. **Nature**, 315: 758-761, 1985.

HUGHES, T; SAGLIO, G; BRANDFORD, S; *et al.* Impact of baseline BCR-ABL mutations on response to nilotinib in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase. **Journal of Clinical Oncology**, 27(25): 4204-4210, 2009.

JABBOUR, E; JONES, D; KANTARJIAN, H.M; *et al.* Long-term outcome of patients with chronic myeloid leukemia treated with second-generation tyrosine kinase inhibitors after imatinib failure is predicted by the in vitro sensitivity of BCR-ABL kinase domain mutations. **Blood**, 114(10): 2037-2043, 2009.

KANTARJIAN, H.M; GILES, F.J; O'BRIEN, S.M; *et al.* Clinical course and therapy of chronic myelogenous leukemia with interferon-alpha and chemotherapy. **Hematology/Oncology Clininics of North America**, 12(1): 31-80, 1998.

KANTARJIAN, H.M; SHAH, N.P; HOCHHAUS, A; *et al.* Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. **New England Journal of Medicine**, 362: 2260-2270, 2010.

KEARNEY, L; ORCHARD, K.H; HIBBIN, J.A; GOLDMAN, J.M. T-cell cytogenetics in chronic granulocytic leukaemia. **Lancet**, 319(8276): 858, 1982.

KENNEDY, B.J. The evolution of hydroxyurea therapy in chronic myelogenous leukemia. **Seminars in Oncology**, 19(3): 21-26, 1992.

KONOPKA, J.B; WITTE, O.N. Activation of the *abl* oncogene in murine and human leukemias. **Biochimica et Biophysica Acta**, 823(1): 1-17, 1985.

KRAMER, A. JAK2-V617F and BCR-ABL – double jeopardy? **Leukemia Research**, 32(10): 1489-1490, 2008.

KURZROCK, R; BLICK, M.B; TALPAZ, M; *et al.* Rearrangement in the breakpoint cluster region and the clinical course in Philadelphia-negative chronic myelogenous leukemia. **Annals of Internal Medicine**, 105(5): 673-679, 1986.

LeCOUTRE, P.D; GILES, F.G; HOCHHAUS, A; *et al.* Nilotinib in patients with Ph+ chronic myeloid leukemia in accelerated phase following imatinib resistance or intolerance: 24-month follow up results. **Leukemia**, 26(6):1189-1194, 2012.

LEVITZKI, A. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. **European Journal of Cancer**, 38(5): 11-18, 2002.

LIMA, L.M; SAMPAT, K; ASSULINE, S; *et al.* Does pretreatment fluorescence in-situ hibridization predict imatinib-associated hematologic toxicity in chronic myeloid leukemia? **Leukemia & Lymphoma**, 52(6): 1010-1016, 2011.

LOPES, N.R; ABREU, M.T.C.L. Inibidores de tirosino quinase na leucemia mielóide crônica. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 109(11): 2171-2181, 2009.

LORENZI, T.F. **Manual de hematologia – Propedêutica e clínica**. Rio de Janeiro, Ed. MEDSI, 2 ed., 1999.

MARU, Y; WITTE, O.N. The *BCR* gene encodes a novel serine/threonine kinase activity within a single exon. **Cell**, 67(3): 459-468, 1991.

MENZIN, J; LANG, K; EARLE, C.C; *et al.* Treatment patterns, outcome and costs among elderly patients with chronic myeloid leukemia: a population based analysis. **Drugs Aging**, 21(11): 737-46, 2004.

MORALES, C; CARDENAS, V.T; VALENCIA, J.E. Leucemia Mielóide Crónica: diagnóstico y tratamiento. **CES Medicina**, 24(1): 97-108, 2010.

NICOLINI, F.E; MAURO M.J ; MARTINELLI G ; *et al.* Epidemiologic study on survival of chronic myeloid leukemia and Ph(+) acute lymphoblastic leukemia patients with BCR-ABL T315I mutation. **Blood**, 114(26): 5271-5278, 2009.

NOWELL, P.C.; HUNGERFORD, D.A. Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. **Journal of the National Cancer Institute**, 25(1): 85-93, 1960.

O'HARE, T; WALTERS, D.K; STOFFREGEN, E.P; *et al.* In vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relevant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. **Cancer Research**, 65: 4500-4505, 2005.

OROZCO, J.J; VALENCIA, J.E; AIELLO, E; *et al.* Costo efectividad del Dasatinib em el tratamiento de la leucemia mieloide crónica en pacientes resistentes al imatinib. **CES Medicina**, 24(2):31-46, 2010.

RADFORD, I.R. Imatinib. Novartis. **Current Opinion on Investigational Drugs**, 3(3): 492-499, 2002.

ROWLEY, J.D. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by Quinacrine fluorescence and Giemsa staining. **Nature**, 243(5405): 290-293, 1973.

SANT M; ALLEMANI C; TEREANU C; *et al.* Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. **Blood**, 116(19): 3724-3734, 2010

SHAH, N.P; NICOLL, J.M; NAGAR, B; *et al.* Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia. **Cancer Cell**, 2(2): 117-125, 2002.

SILVEIRA, C.A.P. Resposta ao tratamento com mesilato de Imatinibe nos portadores de Leucemia Mielóide Crônica do Hospital de Base do Distrito Federal. Brasília, 2011. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, **Universidade de Brasília**, 2011.

STAM, K; HEISTERKAMP, N; GROSVELD, G; *et al.* Evidence of a new chimeric *bcr/c-abl* mRNA in patients with chronic myelocytic leukemia and the Philadelphia chromosome. **New England Journal of Medicine**, 313(23): 1429-1433, 1985.

SWERDLOW, S.H; CAMPO, E; HARRIS, N.L; *et al.* World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. **IARC Press**, Lyon, 2008.

TALPAZ, M; KANTARJIAN, H.M; MCCREDIE, K.B; *et al.* Clinical investigations of human alpha interferon In chronic myelogenous leukemia. **Blood**, 69(5): 1280-1288, 1987.

TEFFERI, A; DEWALD, G.W; LITZOW, M.L; *et al.* Chronic myeloid leukemia: current application of cytogenetics and molecular testing for diagnosis and treatment. **Mayo Clinic Proceedings**, 80(3): 390-402, 2005.

TEFFERI, A; The history of myeloproliferative disorders: before and after Dameshek. **Leukemia**, 22(1): 3-13, 2008.

VAN ETEN, R.A. c-Abl regulation: a tail of two lipids. **Current Biology**, 13(15): 608-610, 2003.

WEISBERG, E; MANLEY, P.W; BREITENSTEIN, W; *et al.* Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. **Cancer Cell**, 5:129-141, 2005.

ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R. **Hematologia: Fundamentos e Prática**. São Paulo, Ed. Atheneu, 2001.